



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**INÊS MONTEIRO LOPES**

***POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS COM O  
DELIRIUM TREMENS***

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

ÁREA CIENTÍFICA DE PSIQUIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

JOAQUIM MANUEL SOARES CEREJEIRA

TÂNIA VIEIRA DA SILVA

MARÇO/2018

*Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre de Medicina.*

A aluna rege-se pelo Antigo Acordo Ortográfico.

## ÍNDICE DE CONTEÚDOS

RESUMO .....	6
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO .....	10
MÉTODOS .....	14
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÃO .....	35
REFERÊNCIAS.....	35

## ABREVIATURAS

SAA- Síndrome de abstinência alcoólica

DT – Delirium tremens

PUA – Perturbação de Uso de Álcool

CAA – Convulsões por abstinência alcoólica

SLC6A4 -Transportador de serotonina

SLC6A3 -Transportador de dopamina

DRD2 - Receptor de dopamina tipo 2

DRD3 -Receptor de dopamina tipo 3

CCK –Colecistoquinina

CCKAR – Receptor de colecistoquinina

CHRM2 - receptor muscarínico colinérgico tipo 2

CNR1 – Receptor canabinóide tipo I

NPY – Neuropeptídeo Y

GABRA2 - subunidade alfa-2 do receptor do ácido gama-aminobutírico

GRIN1 – Receptor de glutamato ionotrópico N-metil-D-aspartato 1

GRM7 – Receptor de glutamato metabotrópico tipo 7

## RESUMO

**Introdução:** O delirium tremens (DT) é a complicação mais grave da síndrome de abstinência alcoólica (SAA). A prevalência de DT é de 1 a 4% nos indivíduos hospitalizados devido a esta síndrome, estando a sua ocorrência associada a uma mortalidade que oscila entre os 5% e os 15% mesmo sob tratamento apropriado. A fisiopatologia do DT é complexa, envolvendo interações entre fatores genéticos e ambientais em indivíduos suscetíveis. A identificação de genes potencialmente associados ao DT tem uma relevância clínica considerável pois permitiria determinar com maior precisão o prognóstico e o risco de DT.

**Objetivo:** Proceder a uma revisão sistemática dos estudos que investigaram a associação entre polimorfismos genéticos e a ocorrência de DT.

**Métodos:** Os estudos relevantes publicados nos últimos 12 anos foram obtidos na base de dados Medline/Pubmed. Foram incluídos estudos de associação caso-controlo e determinados os Odds Ratios e intervalos de confiança.

**Resultados:** O conjunto de trabalhos implicou o estudo de um total de 31 polimorfismos, tendo sido analisados um total de 19 genes em matéria de associação ou não associação com DT. Destes, 6 genes mostraram associação significativa com o desenvolvimento de DT, nomeadamente o gene DBH (dopamina beta-hidroxilase) (OR=2.8, 95%; IC: 0.97–8.1; p=0.056), o gene CHRM2 (receptor muscarínico colinérgico tipo 2) (valor Chi-square= 13.8; p=0.0001), o gene GABRA2 (subunidade alfa-2 do receptor do ácido gama-aminobutírico) (OR = 1.55), e uma interacção entre os genes DRD2 (receptor de dopamina tipo 2) e S1C6A4 (transportador de serotonina) (OR = 0.14, 95%; IC: 0.04–0.52, p=0,003). Nenhum gene candidato mostrou uma associação positiva que fosse

reproduzida num estudo diferente dentro desta amostra. Os restantes polimorfismos investigados não mostraram associação significativa com o desenvolvimento de DT.

Conclusão: Esta revisão identificou uma variedade de polimorfismos genéticos com associação com o DT, cujos resultados necessitam de ser reproduzidos em amostras de maiores dimensões por forma a serem validados. Neurosistemas como o da transmissão colinérgica e interacções gene-gene entre a transmissão serotoninérgica e dopaminérgica são alvos promissores de investigação futura.

**PALAVRAS-CHAVE:** abstinência alcoólica, delirium tremens, polimorfismos, fisiopatologia

## ABSTRACT

**Background:** Delirium tremens (DT) is considered to be the most severe complication regarding alcohol withdrawal syndrome (AWS) and it is thought to occur in 1-4% of the alcoholic patients hospitalized with this syndrome. Its occurrence ranges from 5% to 15% despite appropriate treatment. The genetic aspects with regard to this pathology are rather complex, involving interactions between genetic and environmental factors in susceptible individuals. Identifying genes potentially associated with DT would have significant clinical relevance as it would allow to determine with greater precision the prognosis and risk of DT.

**Aim:** To perform a systematic review of the studies that addressed the association between genetic polymorphisms and DT.

**Methods:** The relevant published studies in the last 12 years have been retrieved from Medline/Pubmed database. We included case-control association studies and determined odds ratio and confidence intervals.

**Results:** The gathered articles had studied a total of 31 genetic polymorphisms in 19 genes regarding the association with DT. 6 genes have shown significant association, namely the DBH gene (dopamine beta-hydroxylase), CHRM2 gene (cholinergic muscarinic receptor type 2), GABRA 2 gene (Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-2) and one interaction between the DRD2 gene (dopamine receptor type 2) and SLC6A4 (serotonin transporter). None of the candidate genes associations have been reproduced in another study inside this pool of articles. The remaining polymorphisms have shown no significant association with DT.



Conclusion: This review has identified a variety of genetic polymorphisms with significant association with DT, though there is still a need for replication of the results in larger samples. Neurosystems such as that of the cholinergic transmission and gene-gene interactions between serotonergic and dopaminergic transmission are promising targets for future research.

KEYWORDS: alcohol withdrawal, delirium tremens, polymorphism, pathophysiology

## INTRODUÇÃO

A síndrome de abstinência alcoólica (SAA) é uma perturbação psiquiátrica bem reconhecida que ocorre após cessação abrupta, intencional ou não, do consumo prolongado e exagerado de álcool, e estima-se que ocorra em cerca de 8% dos doentes com Perturbação de Uso de Álcool (PUA)<sup>1</sup>. A SAA é caracterizada por um conjunto de sinais e sintomas que normalmente surgem cerca de 1 a 3 dias após o último consumo de álcool<sup>2</sup> e consiste num processo complexo e dinâmico, cujo espectro de manifestações pode ser dividido em termos de intensidade em abstinência ligeira, moderada ou grave.

Em estadios iniciais, os sintomas resumem-se a aspectos autonómicos, tremores, agitação psicomotora, insónias e cefaleias. Na abstinência ligeira, os doentes mantêm-se orientados e plenamente conscientes, iniciando sintomas por volta das 6h após cessação ou redução do consumo, que podem durar entre 4h a 48h. As alucinações visuais, tácteis ou auditivas e ilusões enquanto conscientes são sintomas de abstinência moderada, que podem durar até 6 dias.<sup>3, 4</sup> A ocorrência de convulsões agudas pode dar-se 6h a 48h após a última bebida.<sup>4</sup> O delirium da abstinência alcoólica, ou delirium tremens (DT) é considerado a principal complicação da SAA e consiste numa perturbação da atenção e da função cognitiva de início rápido e flutuante, por vezes com alucinações, no contexto de abstinência alcoólica grave.<sup>5</sup> Nas suas manifestações mais graves, o DT é acompanhado por agitação e sinais de extrema hiperactividade autonómica, incluindo febre, taquicardia marcada, hipertensão e suores profusos.<sup>3</sup> Pode surgir a partir das 48 horas após cessação abrupta do consumo de álcool em indivíduos com PUA e geralmente persiste durante 3-5 dias<sup>6</sup>, no entanto pode prolongar-se até 2 semanas.<sup>2</sup> Estima-se que ocorra em 1 a 4% dos indivíduos hospitalizados por abstinência alcoólica<sup>7</sup> e tem uma mortalidade que oscila entre os 5% e os 15% mesmo sob tratamento apropriado.<sup>2</sup> A identificação de sinais precoces de abstinência alcoólica é, pois, de importância crucial,

dado o seu carácter potencialmente fatal nestas situações. As causas de morte mais comuns associadas ao DT compreendem a falência respiratória e arritmias cardíacas.<sup>2</sup> O consumo diário excessivo de grandes quantidades de álcool, a presença de doença aguda concomitante, história prévia de DT ou CAA, idade avançada e função hepática alterada constituem factores de risco para a ocorrência de DT.<sup>8</sup>

Sob o ponto de vista fisiopatológico, a dependência de álcool reflete um estado de alostase sustentado pela desregulação progressiva de sistemas neurofisiológicos para além dos seus normais limites homeostáticos<sup>9</sup>. O álcool atua como depressor do sistema nervoso central, simultaneamente aumentando o tónus inibitório e inibindo o tónus excitatório através da modulação da atividade do ácido gama-aminobutírico e de aminoácidos excitatórios, respetivamente. O seu consumo crónico leva ao desenvolvimento de tolerância e dependência através de mecanismos compensatórios de sub-regulação dos recetores GABA e expressão aumentada de recetores NMDA, com produção de uma maior quantidade de glutamato de forma a manter a homeostasia da neurotransmissão do SNC<sup>10</sup>. A cessação abrupta do consumo de álcool testa este ténue equilíbrio adaptativo e gera um estado de hiperexcitabilidade do SNC mediada pelo glutamato, com hiperatividade autonómica e complicações neuropsiquiátricas como o DT e as convulsões da abstinência alcoólica (CAA)<sup>11</sup>. Por outro lado, o consumo crónico de álcool leva também à desregulação do sistema dopaminérgico, sendo a sua transmissão aumentada durante a abstinência e conseqüentemente contribuindo para os efeitos alucinogénios.<sup>12</sup> A disfunção dopaminérgica foi também relacionada com os sintomas depressivos da abstinência e foi comprovada uma diminuição de receptores dopamina D2 nos doentes com PUA.<sup>2,13</sup> Outros sistemas neuroquímicos têm vindo a ser implicados na patogénese da SAA: o álcool estimula a libertação de opióides endógenos que vai sofrendo alterações à medida que a tolerância se instala, e parece afectar a actividade de outros canais iónicos,

incluindo a transmissão serotoninérgica, que parece ter um papel facilitador das vias dopaminérgicas no contexto de dependência e abstinência alcoólica.<sup>14</sup>

São diversos os exemplos na literatura dos vários polimorfismos genéticos que se mostraram associados com a PUA. Com efeito, estima-se que cerca de 40-60% da predisposição para o alcoolismo tenha uma contribuição genética<sup>15</sup>. No entanto, a base genética para o desenvolvimento de DT é na maior parte das vezes estudada na sub-análise de fenótipos de dependência alcoólica, e raramente abordada como outcome primário. Por um lado, a sua ocorrência é rara, por outro lado, os aspectos genéticos que se prendem com esta patologia são complexos, envolvendo interações entre factores genéticos e ambientais em indivíduos susceptíveis, e caracterizados por uma contribuição mínima de cada possível factor de risco genético no risco relativo de desenvolvimento da patologia<sup>16</sup>. A somar-se a isto, as convulsões da abstinência alcoólica (CAA) e o DT são também frequentemente analisados em conjunto nos diversos estudos, uma vez que se espera que tenham alguns preditores comuns, como sendo a duração de consumo de álcool ao longo da vida, padrões de consumo mais pesado e gravidade da sintomatologia de abstinência<sup>5</sup>, o que torna mais difícil tirar conclusões no que toca especificamente ao DT.

Numa perspectiva de “gene candidato”, diversos polimorfismos em diversos genes promissores têm vindo a ser estudados ao longo dos anos na procura duma associação com a ocorrência de DT. Apesar da importância que os estudos de associação do genoma (GWAS) detêm na actualidade, esta perspectiva de gene candidato continua a ser relevante e articula-se sinergisticamente com os GWAS, podendo providenciar, no caso particular do DT, uma oportunidade de explorar aspectos desconhecidos da sua fisiopatologia intrincada.

Um artigo de Munster, Van *et al.*, 2007 fez uma revisão dos polimorfismos em genes cuja associação com DT foi aferida, tendo sido reportados genes candidatos envolvidos na transmissão dopaminérgica (receptor dopaminérgico D2, gene COMT, transportador de dopamina SLC6A3), transmissão glutamatérgica (receptor ionotrópico de glutamato do tipo cainato 3, gene do receptor de glutamato NMDA), bem como um gene neuropeptídeo (gene da colecistoquinina) e um gene para um receptor canabinóide (CNR1). Desde então diversos outros polimorfismos foram estudados em matéria de associação com DT.

O presente trabalho tem como objectivo proceder a uma revisão sistemática dos estudos que investigaram a associações entre polimorfismos genéticos e a ocorrência de DT. A identificação de genes potencialmente associados ao DT tem uma relevância clínica considerável pois permitiria determinar com maior precisão o prognóstico e o risco de ocorrência de DT.

## MÉTODOS

### *Método de pesquisa*

A pesquisa para a presente revisão sistemática da literatura foi conduzida na base de dados MEDLINE/Pubmed, tendo como estratégia a seguinte combinação de termos-chave: “alcohol withdrawal delirium” AND (“polymorfism” OR “genetic\*” OR “candidate gene\*”). Em relação aos filtros utilizados, foram procurados artigos científicos relevantes desde fevereiro de 2006 a fevereiro de 2018, abrangendo as seguintes línguas: inglês, francês, espanhol, italiano e português. Adicionalmente, foram analisadas as referências bibliográficas dos artigos encontrados nesta pesquisa, no sentido de identificar artigos não identificados no processo anterior.

### *Crítérios de inclusão e exclusão*

Foram incluídos estudos caso-controlo que analisaram a associação entre um polimorfismo genético previamente conhecido e o desenvolvimento de delirium tremens na ausência de outras síndromes de abstinência alcoólica.

Revisões narrativas e sistemáticas, meta-análises, estudos de caso e estudos sem relação com o DT foram excluídos desta análise.

Não foram excluídos desta revisão estudos com base no local da sua realização, na idade dos doentes, no número de indivíduos no estudo ou na duração da dependência alcoólica dos doentes aquando do estudo.

### *Seleção dos estudos*

Os títulos e *abstracts* foram avaliados em matéria de relevância e de desenho de estudo, de acordo com os critérios de seleção explicitados. A versão completa dos artigos foi obtida quando, a partir desta avaliação inicial, estes satisfaziam os critérios de inclusão ou sempre que permaneciam dúvidas quanto à sua elegibilidade. Posteriormente, os artigos completos foram recolhidos e lidos na íntegra com especial foco nos materiais e métodos por forma a identificar aqueles que contemplavam os critérios elegíveis.

### *Extração de dados*

De cada artigo selecionado foram extraídas as seguintes informações, quando e se fornecidas: nome do autor e ano, local de realização do estudo, o número de indivíduos envolvidos no estudo (casos e controlos), etnia/origem ancestral da população, sexo dos participantes, intervalo de idades ou idade média, nº absoluto de indivíduos com delirium tremens, percentagem de indivíduos com delirium tremens nos doentes com Perturbação de Uso de Álcool, constituição do grupo controlo, critérios de inclusão ou exclusão de cada estudo, fatores equiparáveis entre grupo dos doentes e de controlos saudáveis, teste estatístico utilizado, estado do equilíbrio Hardy-Weinberg, critérios de diagnóstico do delirium tremens, outras possíveis associações encontradas nos estudos, nomeadamente diferenças ao nível de grupos etários, idade de início do distúrbio de consumo de álcool, duração do distúrbio, história familiar, subtipos de alcoolismo (classificação de Cloninger), tipos de sintomas, bem como as principais evidências e conclusões dos estudos não relacionadas com o DT.

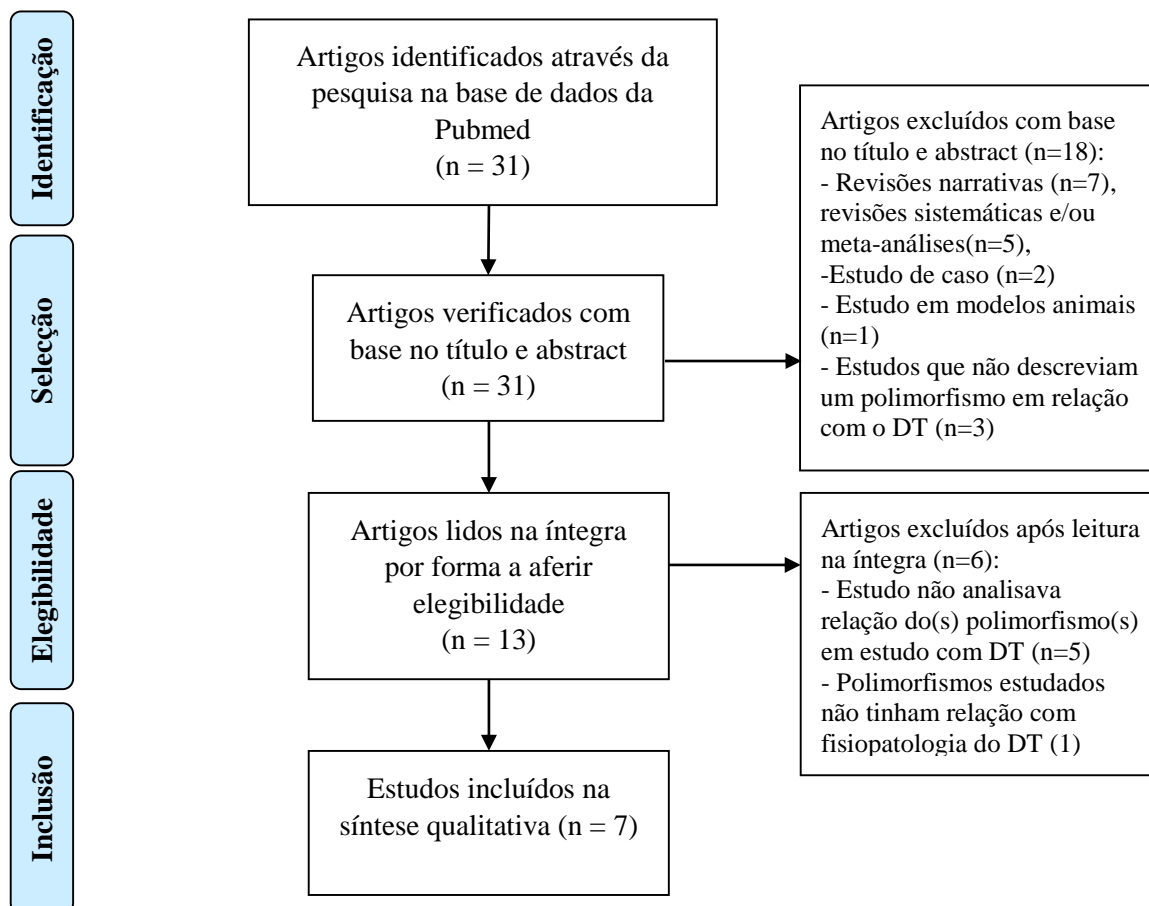


Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção dos trabalhos incluídos. Adaptado de Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(6): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097.



## RESULTADOS

O processo de selecção dos artigos contemplados nesta revisão encontra-se sistematizado sob a forma de fluxograma na Figura 1. A amostra potencial era constituída por 31 artigos. A leitura dos títulos e análise dos *abstracts* permitiu uma avaliação da relevância dos mesmos face ao presente estudo, tendo sido seleccionados 13 estudos numa análise preliminar. Os artigos excluídos nesta fase eram artigos de revisão, meta-análises e artigos de opinião, estudos de caso e estudos exclusivamente laboratoriais (em modelos animais), ou não descreviam um polimorfismo em relação com o DT. A análise do texto integral dos artigos potencialmente elegíveis levou à selecção de 7 estudos, os quais analisaram o DT isoladamente em relação à síndrome de abstinência alcoólica. Durante este processo foram excluídos 6 estudos, um por não estudar genes candidatos com relação com a fisiopatologia do DT e 5 estudos por não descreverem uma associação do(s) polimorfismo(s) em estudo com o DT em particular.

As características dos 7 artigos seleccionados são compiladas na Tabela 1. O conjunto de trabalhos implicou o estudo de um total de 31 polimorfismos. Todos os estudos referidos tinham um desenho de tipo caso-controlo. Destes, 1 estudo<sup>17</sup> definiu como grupo controlo indivíduos sem PUA saudáveis, 1 estudo<sup>18</sup> definiu controlos com PUA sem DT, 3 estudos<sup>19; 20; 21</sup> definiram ambos os grupos anteriores (sendo que o último ressalva que seleccionou indivíduos sem PUA mas com exposição ao álcool), 1 estudo<sup>22</sup> definiu como controlos indivíduos com PUA sem história de SAA e um segundo grupo de indivíduos com PUA com história de SAA mas sem DT/convulsões, e finalmente 1 estudo<sup>23</sup> definiu como controlos apenas indivíduos com PUA com história de SAA sem DT/convulsões. A população dos estudos era maioritariamente mista, à excepção de

Ivashchenko *et al.* e Malhotra *et al.*, que apenas incluíram homens. À parte 2 estudos, os indivíduos estudados eram Caucasianos.

A frequência de DT nos indivíduos alcoólicos variou entre 6,7% e 36,3%, com uma contagem absoluta de indivíduos com DT entre 33 e 235 (média de 84,57).

Em 3 estudos foi aplicada uma correção para testes múltiplos pelo método de Bonferroni. A maioria dos estudos foi executada utilizando a metodologia Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), no entanto outros métodos de genotipagem foram também utilizados, como sendo ensaios TaqMan, PCR multiplex e SNPstream.

Como é possível verificar na Tabela 1, 19 genes foram investigados em matéria de associação ou não associação com DT, tendo sido testado um total de 31 polimorfismos genéticos. Destes, 6 genes mostraram associação significativa com o desenvolvimento de DT, nomeadamente o gene DBH (dopamina beta-hidroxilase), o gene CHRM2 (receptor muscarínico colinérgico tipo 2), o gene ADH4 (álcool desidrogenase tipo 4) – associação nominalmente significativa -, o gene GABRA2 (subunidade alfa-2 do receptor do ácido gama-aminobutírico), e uma interação entre os genes DRD2 (receptor de dopamina tipo 2) e S1C6A4 (transportador de serotonina). Nenhum gene candidato mostrou uma associação positiva que fosse reproduzida num estudo diferente dentro desta amostra de trabalhos. Os restantes polimorfismos investigados não mostraram associação significativa com o desenvolvimento de DT.

Tabela 1 – Características dos estudos incluídos

Autor, ano, local do estudo	Gene (polimorfismo)	População	Diagnóstico de DT	Características da amostra		Método de genotipagem	Teste estatístico	Associação com DT
				Casos	Controlos			
Grzywacz et al., 2012 <sup>18</sup> , Polónia	<b>DRD2</b> (-141 C I/D; exão 8 A/G)) <b>ANKK1</b> (Taq1A)	Caucasianos polacos, H/M	ICD-10	33 alcoólicos com história de DT % DT: 15,5%	213 alcoólicos (14M, 199H) Idades: 33± 9 anos	PCR-RFLP	Teste $\chi^2$ de Pearson e teste exacto de Fischer Alfa:0,05	Sem associação com DT
Ivanshenko et al, 2015 <sup>22</sup> , Rússia	<b>SLC6A3/DAT</b> (40 bp VNTR, C>T 3'UTR) <b>DBH</b> (-1021 C/T)	Caucasianos russos, H	ICD-10	92 alcoólicos (H) com história de DT; 23 com DT e convulsões idade média: 43,2 ± 10.3 anos % DT: 34,5%	267 alcoólicos (H) (43.2 ± 10.3 anos); 136 alcoólicos com SAA sem DT/convulsões	Não referido	Análise de variância, teste de $\chi^2$ e regressão logística	O genótipo -1021 C/T*CC foi associado com risco aumentado de SAA com DT e convulsões (OR=2.8, 95% CI: 0.97–8.1; P=0.056).
Karpyak et al. 2010 <sup>23</sup> , EUA	<b>SLC6A4</b> (repetição L versus S)	Americanos com ancestralidade	DSM-IV	112 alcoólicos (30 M) com história de	92 indivíduos com dependência alcoólica (30	SNPstream	Teste exacto de Fisher e Cochran-	Interacção gene-gene: Menor probabilidade de DT em alcoólicos com pelo menos um alelo DRD2 rs6276 G e o

	<p><b>SLC6A3</b> (repetição 9 versus 10; 3'UTR 2319G/A) <b>DRD2</b> (exão 8 + 246<sup>a</sup>/G) <b>DRD3</b> (Ser9Gly) <b>CCK</b> (-45 ou - 38C/T) <b>CCKAR</b> (tipo A -85C/G) <b>NPY</b> (Ser68Ser) <b>CNR1</b> (Thr453Thr) <b>GRIN1</b> (Pro263Pro) <b>GRM7</b> (Phe433Tyr)</p>	<p>européia, H/M</p>		<p>convulsões e/ou DT Nº de alcoólicos com DT:74 % DT: 36,3%</p>	<p>M) com história de SAA sem convulsões e/ou DT Nº de alcoólicos sem DT: 130</p>		<p>Armitage trend test; interacção s gene- gene – regressão logística com multivariá veis Equilíbrio Hardy– Weinberg testado</p>	<p>genótipo SLC6A4 LL (odds ratio = 0.14, 95%; intervalo de confiança: 0.04–0.52, p=0,003).</p>
<p>Malhotra et al, 2018<sup>21</sup>, Índia</p>	<p><b>COMT</b> (Val158Met) <b>GABRA1</b> (A/G) <b>GABRA2</b> (A/G) rs279871 <b>SCL6A4</b></p>	<p>Ancestrali dade Norte- Indiana, H</p>	<p>SSAG A II</p>	<p>60 alcoólicos com história de DT (41±8.8 anos)</p>	<p>210 alcoólicos (H, 41.5±8.5 anos); 200 indivíduos com exposição ao álcool (H, 39.2±4.73 ano)</p>	<p>rt-PCR</p>	<p>Pearson's Chi- square test (P&lt;0,05) Hardy- Weinberg testado</p>	<p>SNP (alelo T) do gene CHRM2 mostrou associação significativa com desenvolvimento de DT (valor Chi-square= 13.8; p=0.0001)</p>

	(5'HTTLPR A/G) <b>CHRM2</b> (G/T)			% DT: 28,6%				
Nedic et al., 2013 <sup>17</sup> Croácia	<b>BDNF</b> (Val66Met)	Caucasian os croatas, H/M	Não referido	45 (3M, 42H) alcoólicos com história de DT; 675 alcoólicos % DT:6,7%	914 controlos saudáveis (655H, 47.5±19.1 anos; 259M, 69.5±16.4)	Taqman - PCR	Regressão logística	Sem associação com DT
Preuss et al, 2011 <sup>19</sup> , Alemanha	<b>ADH4</b> SNP6 (prom-136bp C/A) E SNP2 (Gly388Arg A/G)	Caucasian os alemães e polacos, H/M	DSM-IV	235 alcoólicos com história de DT % DT:14,5%	1622 alcoólicos (1273H/349M, 43.25±9.9 anos)/1469 controlos saudáveis	TaqMan PCR	Teste Armitage de tendência	O haplótipo A-A mostrou associação nominalmente significativa com menor risco de DT (inicialmente p=0.008, p=0.104 após correcção de Bonferroni)
Soyka et al. 2008 <sup>20</sup> , Alemanha	<b>GABRA2</b> rs279837, rs279844, rs279858, rs279869, rs529826, rs534459 e rs567926	Caucasian os Alemães, H/M	DSM IV e ICD10	53 alcoólicos com história de DT % DT: 18,2%	291 alcoólicos (231H, 60M, 41.9 ± 9.5 anos); 295 controlos saudáveis	Multiple x PCR	Análise de variância e teste Chi-square	Um dos haplótipos (T-C-A-C-A-T-T-C) foi significativamente associado com maior risco de sintomas de abstinência alcoólica (OR = 1.72) em comparação com os controlos e maior risco de delirium tremens (OR = 1.55) quando só os alcoólicos foram considerados.

<p>Legenda: SLC6A4 -Transportador de serotonina; SLC6A3 -Transportador de dopamina ; DRD2 - Receptor de dopamina tipo 2; DRD3 - Receptor de dopamina tipo 3; CCK –colecistoquinina; CCKAR – receptor de colecistoquinina; NPY – neuropéptido Y; CNR1 – receptor canabinoide tipo I; GRIN1 – Receptor de glutamato ionotrópico N-metil-D-aspartato 1; GRM7 – receptor de glutamato metabotrópico tipo 7</p> <p>Os polimorfismos são descritos conforme surgem referenciados nos respectivos estudos.</p>								

## DISCUSSÃO

A presente revisão sistemática da literatura propôs-se determinar padrões de associação entre polimorfismos genéticos e a ocorrência de DT. De entre os estudos revistos destacaram-se as associações positivas de um gene associado com a transmissão colinérgica, um gene associado com a transmissão GABA, um gene associado com a transmissão dopaminérgica e uma interação de dois genes envolvidos na transmissão serotoninérgica e dopaminérgica. Nenhuma das associações positivas foi replicada noutro estudo.

### *Subunidade alfa-2 do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABRA2)*

Encontra-se desde há muito estabelecida a relação entre a dependência alcoólica e o gene GABRA2, localizado no cromossoma 4p, que codifica para a subunidade  $\alpha 2$  do receptor GABA-A. Com efeito, o papel desta subunidade tem particular destaque neste neurosistema inibitório, uma vez que medeia diversos efeitos do álcool incluindo sedação, ansiólise, descoordenação motora e sintomas de abstinência <sup>24; 25; 26</sup>. No que toca à abstinência alcoólica, estudos imagiológicos em cérebros humanos demonstraram uma sub-regulação persistente de receptores GABA-A centrais em estados iniciais desta síndrome <sup>27</sup>. Ligandos de benzodiazepinas com alta afinidade pela subunidade  $\alpha 2$  do receptor GABA-A são usados no tratamento de sintomas de abstinência alcoólica <sup>24; 28</sup>. Foi também recentemente sugerido que os receptores GABA-A que participam na dependência de álcool tanto em modelos animais como em humanos são os subtipos supra-regulados pela acção do etanol que contêm subunidades  $\alpha 4$  e, especialmente,  $\alpha 2$ . Estes subtipos parecem influenciar aspectos de reforço positivo do álcool no alcoólico

crônico, e parecem simultaneamente aliviar sintomas de abstinência quando o álcool está ausente.<sup>29</sup>

O estudo de Soyka et al. (2008) vem não só apoiar estas associações com dependência alcoólica anteriormente detectadas - estudos de associação utilizando amostras com Europeus Americanos de origem não-Hispânica<sup>30</sup> e confirmadas em indivíduos Russos<sup>31</sup> -, como apresentar uma associação com sintomas de abstinência, particularmente, com a ocorrência de DT. Portadores do haplótipo T-C-A-C-A-T-T-C (rs9291283) mostraram um risco significativamente maior de abstinência alcoólica (OR=1,72) quando comparados com os controles, e de DT (OR=1,55) quando apenas os alcoólicos foram considerados. Concluiu-se que este haplótipo específico parece ter relevância tanto no curso da dependência alcoólica como em termos de gravidade da abstinência alcoólica. Uma vez mais, este achado não encontrou reprodutibilidade noutros estudos. Nesta revisão, também o estudo de Malhotra et al. se propôs investigar a associação deste gene com a ocorrência de DT, não tendo sido reportada nenhuma relação significativa.

#### *Dopamina beta-hidroxilase (DBH)*

Dado que a enzima dopamina-beta-hidroxilase converte dopamina em norepinefrina e ambos os neurotransmissores parecem estar envolvidos na fisiopatologia do alcoolismo e nos sintomas de abstinência alcoólica, polimorfismos do gene DBH têm vindo a ser investigados no sentido de explorar possíveis associações com estas perturbações de abuso de álcool. O estudo de Kohnke et al (2006) demonstrou uma associação significativa do polimorfismo DBH\*444G/A deste gene com alcoolismo, mas não detectou significância estatística quanto à relação com sintomas graves de abstinência, incluindo CAA e DT.



Um estudo de Freire et al.<sup>32</sup> determinou que o polimorfismo funcional -1021C/T do gene da dopamina beta-hidroxilase não parecia estabelecer relação com o alcoolismo, no entanto a sua associação com a gravidade da SAA permanecia pouco clara. Nesta revisão, o grupo Ivashenko et al. detectou com o seu trabalho uma associação entre o genótipo -1021 C/T\*CC e um risco aumentado de SAA com DT e CAA (OR=2.8, 95% CI: 0.97–8.1; p=0.056). Importa notar, no entanto, que a relação encontrada diz respeito à presença de complicações graves da SAA indissociadas, isto é, a ocorrência de DT e CAA foi analisada em bloco, pelo que não é possível concluir que exista uma associação deste polimorfismo com a ocorrência de DT em particular.

#### *Receptor muscarínico colinérgico tipo 2 (CHRM2)*

De entre os estudos apresentados nesta revisão, o estudo de Malhotra et al. destaca-se por investigar pela primeira vez a possível implicação de genes envolvidos na transmissão colinérgica no desenvolvimento de delirium tremens. À luz do importante papel que este neurossistema detém na fisiopatologia do desenvolvimento de delirium não associado à abstinência de álcool<sup>33</sup>, compreende-se com facilidade a pertinência de investigar se os mesmos genes poderão estar, também eles, envolvidos neste tipo particular de delirium.

O gene do receptor colinérgico muscarínico 2 (CHRM2) localiza-se no braço longo do cromossoma 7 e desempenha um papel importante na modulação da excitabilidade neuronal, plasticidade sináptica e feedback de libertação de acetilcolina<sup>34</sup>. Segundo Jung *et al.*, 2011, a normal função deste receptor parece ser influenciada pela dependência de álcool, o que vem apoiar a inclusão deste gene no leque de genes candidatos à associação com o desenvolvimento de DT.

Efectivamente, o grupo Malhotra et al. demonstrou que o polimorfismo no gene CHRM2 G/T era significativamente mais comum no grupo DT do que no grupo de doentes com PUA sem DT (valor Chi-square=13.9; p=0,001), e no grupo de controlos com população normal. Quando os genótipos G/T e T/T foram comparados com o genótipo G/G, a combinação de genótipos revelou uma significativa associação (valor Chi-square=13.8; p=0,0001) com o grupo com DT. O grupo concluiu, deste modo, que o estado de portador do alelo T conferia vulnerabilidade para DT. A diferença de frequências de outros genótipos, nomeadamente COMT, GABRA1, GABRA2 e 5HTTLPR entre os dois grupos mostrou-se não significativa. Os resultados do grupo Malhotra et al. vêm abrir possibilidades para uma vertente de investigação do DT que se debruce sobre as similaridades etiológicas que esta patologia pode ter com o delirium de causa não-alcoólica para além do fenótipo de manifestações sintomáticas sobreponíveis. Havendo reprodutibilidade em amostras maiores no futuro, este achado poderia vir a deter um papel importante no desenvolvimento de novos fármacos e potenciais marcadores de risco e prognóstico de DT.

*Interacção gene-gene entre o transportador de serotonina SLC6A4 e o receptor de dopamina DRD2*

Um aspecto de marcada importância nesta revisão foi a inclusão de estudos que se propuseram estudar o papel das interacções gene-gene, um aspecto em falta na literatura publicada até então que contribui significativamente para a vulnerabilidade para fenótipos aditivos complexos <sup>36</sup>. O grupo Karpyak et al. testou as interacções gene-gene de todos os genes em estudo no seu trabalho em relação à associação com a presença de história de DT e/ou convulsões, tendo detectado uma interacção gene-gene significativa entre o polimorfismo do promotor do SLC6A4 e o SNP rs6276 do gene DRD2 (p=0,009), demonstrando que antecedentes de convulsões e/ou DT eram menos comuns em

indivíduos com o genótipo SLC6A4 LL que eram portadores dos genótipos AG ou GG no locus rs6276 do gene DRD2. Este achado foi investigado de seguida em modelos ajustados para co-variáveis relevantes, em particular medidas de consumo averiguadas anteriormente na amostra de indivíduos, o que resultou em evidências ainda mais fortes da interacção SLC6A4-DRD2 em relação com a história de DT/convulsões ( $p=6,5 \times 10^{-5}$ ). Analisando a associação da interacção com a história de DT e de convulsões isoladamente, o grupo encontrou nenhuma associação da interacção SLC6A4-DRD2 com história de convulsões ( $p=0,82$ ) e uma associação com DT ainda mais forte ( $p=0,003$ ) do que a detectada anteriormente agrupando o grupo DT/convulsões. Após ajustamento do modelo para as mesmas covariáveis referidas, a interacção do genótipo SLC6A4-DRD2 com história de DT mostrou uma significância indelével ( $p=2,8 \times 10^{-5}$ ). Este é, pois, o primeiro relato dos efeitos das interacções gene-gene em fenótipos relacionados com abstinência alcoólica em geral, e na história de DT em particular.

O papel das interacções físicas e funcionais entre a transmissão serotoninérgica e dopaminérgica tem sido implicado em diversas fisiopatologias de distúrbios psiquiátricos, no controlo de impulsos e em modelos de aprendizagem de reforço<sup>37</sup>, no entanto o mecanismo fisiológico exacto que veicula esta interacção serotonina-dopamina e o potencial de interacções entre variantes de genes como os que aqui descrevemos permanece uma incógnita, e exigirá que sejam desenvolvidos mais estudos com foco nesta questão. Por outro lado, também este achado relativo à interacção SLC6A4-DRD2 terá de ser reproduzido numa amostra maior, mas instiga desde já a procura de outras interacções gene-gene promissoras.

#### *Integração com a revisão anterior*

Importa notar que uma revisão sistemática levada a cabo pelo grupo Munster et al. em 2007 havia já estabelecido a potencial associação de 8 variações genéticas

específicas com o desenvolvimento de DT. Por este motivo, é feita na Tabela 3 uma integração dos resultados de ambas as revisões, compilando todos os artigos publicados até à data em matéria de genes estudados e associação, demonstrada ou não, com o DT.

A selecção das diversas variações genéticas candidatas ao longo dos anos foi baseada no conhecimento contemporâneo do papel funcional de cada variação na normal função do gene ou envolvimento do produto do gene na via fisiopatológica conhecida. Assim, vários modelos de neurotransmissão foram implicados como intervenientes nos mecanismos de dependência alcoólica e abstinência alcoólica em todo o seu espectro de manifestações, sendo o DT estudado frequentemente em subanálise.

É interessante notar que, apesar de os neurosistemas GABAérgicos e glutamatérgicos estarem no cerne do que se postula que sejam os mecanismos fisiopatológicos de abstinência alcoólica, os estudos de associação com DT publicados na literatura focam-se em muito maior escala em polimorfismos associados à transmissão dopaminérgica (Tabela 2), dado que o objectivo primário da maior parte dos estudos consiste na investigação da associação entre polimorfismos genéticos e dependência alcoólica.

Genes que codificam para proteínas envolvidas com a neurotransmissão dopaminérgica e sua modulação foram vistos como alvos plausíveis. A dopamina constitui o neurotransmissor basilar no sistema de recompensa humano, razão pela qual genes que codificam para enzimas sintetizadoras ou de degradação, receptores e transportadores deste neurotransmissor compõem em grande medida o leque de genes candidatos na investigação da dependência de álcool <sup>12</sup>.

Tendo em conta o desequilíbrio dos neurosistemas de glutamato e GABA associados à abstinência alcoólica, verificaram-se algumas tentativas de explorar relações

entre genes que codificam para proteínas intervenientes nestas vias, mas nem sempre bem-sucedidas. No geral os resultados permanecem ambíguos, uma vez mais, provavelmente devido a vieses de amostragem, diferentes critérios de diagnóstico de alcoolismo, baixo poder estatístico, a variabilidade da selecção dos casos com DT, ou uma combinação destes factores. Cada vez mais evidencias têm indicado que estudos de associação baseados em amostras pequenas têm poder estatístico insuficiente, gerando achados pronunciadamente contraditórios<sup>38</sup>. A integração de estudos da Tabela 3 permite verificá-lo, já que não raras vezes a associação positiva de determinado gene é contrariada por outro estudo, o que não significa, importa notar, que se exclua um papel do produto do gene na fisiopatologia do DT <sup>8</sup>.

### *Limitações*

Uma das limitações a considerar nesta revisão sistemática consiste no facto da amostra de artigos compreender apenas 7 artigos. O pequeno número de artigos seleccionados é justificado pelo facto de ter sido aplicada uma janela temporal de pesquisa, tendo sido obtidos os estudos relevantes publicados nos últimos 12 anos. Por outro lado, poderá também somar-se-lhe o facto de apenas ter sido utilizada apenas uma base de dados para a pesquisa.

Quanto a outras particularidades importantes, nenhuma das associações positivas foi replicada por outro estudo dentro desta amostra. Com efeito, ainda que o número de associações positivas entre polimorfismos genéticos e o desenvolvimento de formas graves de abstinência alcoólica como são as convulsões e o delirium tremens continue a aumentar de forma consistente <sup>39</sup>, poucos são os achados que chegam a ter reprodutibilidade. Este facto parece prender-se quer com o carácter heterogéneo das

origens raciais e étnicas dos indivíduos incluídos nos estudos quer com a abordagem na selecção de controlos. Uma grande limitação na tentativa de estabelecer umnexo de causalidade entre os resultados díspares na investigação do DT em particular é o facto de, não raras vezes, serem utilizados indivíduos saudáveis como grupo de controlo, o que condiciona em grande medida a análise apropriada da associação de determinado marcador genético com esta patologia, já que a associação que possa ser demonstrada nestes moldes pode ter relação, essa sim, com a dependência de álcool.

Sendo o objectivo principal deste trabalho o estudo da possível ligação entre marcadores genéticos e a ocorrência de delirium tremens, a escolha de grupos controlos constituídos por indivíduos com dependência de álcool seria mais direccionada, cabe fazer notar. Importa também notar, no entanto, que dessa escolha adviria um segundo problema, que se prende com o facto de que não temos como saber se os indivíduos alcoólicos usados para controlo não viriam a desenvolver DT no futuro. Com efeito, são aspectos como estes que reiteram os condicionamentos a que um design caso-controlo obriga. A totalidade dos artigos aqui revistos tinha este design, ao invés de um design longitudinal prospectivo, cujos resultados beneficiariam de maior validade, e por isso o mais indicado para dar resposta a questões singulares e direccionadas <sup>40</sup> como a que é aqui colocada.

Importa notar que a grande maioria dos estudos aqui abordados possuíam amostras relativamente pequenas e pouco poder para detectar verdadeiras diferenças entre os grupos estudados. Por outro lado, a totalidade dos trabalhos aqui revistos baseou-se em diagnósticos de delirium tremens retrospectivos, definidos principalmente pelos sintomas presentes nos diários clínicos ou através de questionários, e nem todos os estudos foram específicos quanto os critérios de diagnóstico oficiais por eles usados aquando da recolha dos casos. As características metodológicas de cada estudo foram por

vezes consideravelmente diferentes, dependendo do objectivo primário de cada estudo e da importância dada à investigação da associação dos polimorfismos com a ocorrência de DT em particular.

Alguns estudos não forneceram informação suficiente acerca da amostra utilizada que nos permitissem incluir ou excluir indivíduos com comorbilidades psiquiátricas, e por esta razão a inclusão de indivíduos alcoólicos ou controlos com estas comorbilidades pode também ter influenciado os achados de determinados estudos.

Tabela 3 - Associação de genes candidatos com o delirium tremens. A tabela inclui todos estudos publicados que estudaram a relação de um gene candidato com o delirium tremens. As linhas sombreadas referem-se à totalidade de associações positivas com DT; o sombreado mais escuro relativo à contribuição positiva dos estudos analisados nesta revisão sistemática.

Artigo(s)	Gene candidato	Nome HGNC	Nº estudos	Nº polimorfismos	Associação com DT	Neurotransmissor
Malhotra et al. (2018)	CHRM2	Receptor muscarínico colinérgico 2	1	1	<b>1</b>	Acetilcolina
Schmidt et al. (2002), Preuss et al. (2003), Karpyak et al. (2010)	CNR1	Receptor canabinoide 1	3	1	1	Canabinoide
Preuss et al. (2011)	ADH4	Álcool desidrogenase 4	1	2	0	Enzima de destoxificação
Okubo et al. (2003)	GSTM1	Glutatio S-transferase M1	1	1	0	Enzima de destoxificação
Grzywacz et al. (2012)	ANKK1	Ankyrin Repeat and Kinase Domain Containing 1	1	1	0	Dopamina
Sander et al. (1995)	DRD1	Receptor de dopamina 1	1	1	0	Dopamina
Sander et al.(1995), Johann et al. (1995), Cruz et al. (1995), Grzywacz et al. (2012), <b>Karpyak et al. (2010)</b>	DRD2	Receptor de dopamina D2	5	3	<b>1</b>	Dopamina
Sander et al. (1995), Wodarz et al. (2003), Karpyak et al. (2010)	DRD3	Receptor de dopamina D3	3	2	2	Dopamina
Sander et al.(1997), Limosin et al. (2004), Kohnke et al (2005 <sup>a</sup> ), Wernicke et al. (2002), Ivanchenko et al. (2015), Karpyak et al. (2010)	SLC6A3	Solute carrier family 6, member 3	6	2	2	Dopamina



Ishiguro et al. (1999 <sup>a</sup> ), Kohnke et al. (2003)	COMT	Catecol-O-metiltransferase	2	1	0	Dopamina/noradrenalina
Kohnke et al(2002), Kohnke et al (2006), <b>Ivanchenko et al (2015)</b>	DBH	Beta-hidroxilase da dopamina	3	2	<b>1</b>	Dopamina/noradrenalina
Sander et al. (1998)	TH	Tirosina hidroxilase	1	1	1	Dopamina/norepinefrina
Preuss et al.(2006)	GRIK3	Receptor de glutamato ionotrópico kainato 3	1	1	0	Glutamato
Rujescu et al. (2005), Karpyak et al. (2010)	GRIN1	Receptor de glutamato ionotrópico N-metil D-aspartato 1	2	1	0	Glutamato
Tadic et al. (2005)	GRIN2B	Receptor de glutamato ionotrópico N-metil D-aspartato 2B	1	2	0	Glutamato
Preuss et al. (2002), Karpyak et al. (2010)	GRM7	Receptor de glutamato metabotrópico 7	2	1	0	Glutamato
Preuss et al. (2002)	GRM8	Receptor de glutamato metabotrópico 7	1	1	0	Glutamato
Kohnke et al. (2002), Karpyak et al. (2010)	NPY	Neuropéptido Y	2	1	0	Neuropéptido
Okubo et. Al (2004), Karpyak et al. (2010)	CCK	Colecistoquinina	2	1	0	Neuropéptido
Matsushita et al. (2004), Nedic et al(2013)	BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	2	2	1	Neuropeptídeo
Ishiguro e al. (1999b), Matsushita et al. (2001), <b>Karpyak et al. (2010)</b> , Malhotra et al. (2018)	SLC6A4	Solute carrier family 6 member 4 Transportador de serotonina	4	3	<b>1</b>	Serotonina
Malhotra et al. (2018)	GABRA1	Subunidade alfa-1 do receptor de ácido gama-aminobutírico	1	1	0	GABA

<b>Soyka et al. (2008), Malhotra et al. (2018)</b>	GABRA 2	Subunidade alfa-2 do receptor de ácido gama-aminobutírico	2	7	<b>1</b>	GABA
--	------------	--	---	---	----------	------

## CONCLUSÃO

Esta revisão identificou uma variedade de polimorfismos genéticos com associação com o DT, cujos resultados necessitam de ser reproduzidos em amostras de maiores dimensões por forma a serem validados. Destacam-se neurossistemas como o da transmissão colinérgica e interações gene-gene entre a transmissão serotoninérgica e dopaminérgica como alvos promissores de investigação futura.

A multiplicidade de genes candidatos que mostram associação esta patologia nos estudos publicados ao longo dos anos apoia a visão de que, apesar dos vários confundidores possíveis, existem ainda diversos mecanismos com relação com formas graves de abstinência alcoólica que só agora se revelam.

A perspectiva de desenvolvimento de testes de rastreio simples de forma a genotipar genes de interesse e diferenciar indivíduos em abstinência alcoólica com mais predisposição para o desenvolvimento de DT ainda permanece distante.

No entanto, a análise futura dos mecanismos que permitem que determinadas interações entre genes e produtos de genes modulem a tendência a desenvolver DT poderão permitir adaptações terapêuticas e medidas preventivas no contexto de urgência com impacto indiscutível na abordagem desta patologia.

## REFERÊNCIAS

1. PERRY, Elizabeth C. - Inpatient Management of Acute Alcohol Withdrawal Syndrome. **CNS Drugs**. ISSN 1172-7047. 28:5 (2014) 401–410. doi: 10.1007/s40263-014-0163-5.
2. KRUSE, James A. - **Toxicology** [Em linha]. [S.l.] : Saunders, 2012 [Consult. 24 mai. 2018]. Disponível em WWW:<URL:[https://books.google.pt/books?id=BFE4aP2-gIwC&pg=PT148&lpg=PT148&dq=%22During+the+stress+of+withdrawal,+increases+in+hydrocortisone+and+other+adrenal+hormones,+as+well+as+corticotropin-releasing+factor+\(CRF\),+%22&source=bl&ots=IteXqi6v9u&sig=ysYGYgo33hhwToGQX-hT0XEhE7g&hl=pt-PT&sa=X&ved=0ahUKEwihi\\_qqx53bAhVIsBQKHSpAAN0Q6AEIJzAA#v=onepage&q=%22During+the+stress+of+withdrawal%2C+increases+in+hydrocortisone+and+other+adrenal+hormones%2C+as+well+as+corticotropin-releasing+factor+\(CRF\)%2C+%22&f=false](https://books.google.pt/books?id=BFE4aP2-gIwC&pg=PT148&lpg=PT148&dq=%22During+the+stress+of+withdrawal,+increases+in+hydrocortisone+and+other+adrenal+hormones,+as+well+as+corticotropin-releasing+factor+(CRF),+%22&source=bl&ots=IteXqi6v9u&sig=ysYGYgo33hhwToGQX-hT0XEhE7g&hl=pt-PT&sa=X&ved=0ahUKEwihi_qqx53bAhVIsBQKHSpAAN0Q6AEIJzAA#v=onepage&q=%22During+the+stress+of+withdrawal%2C+increases+in+hydrocortisone+and+other+adrenal+hormones%2C+as+well+as+corticotropin-releasing+factor+(CRF)%2C+%22&f=false)>. ISBN 9781455747597.
3. BAYARD, Max *et al.* - Alcohol withdrawal syndrome. **American family physician**. ISSN 0002-838X. 69:6 (2004) 1443–50.
4. JESSE, S. *et al.* - Alcohol withdrawal syndrome: mechanisms, manifestations, and management. **Acta Neurologica Scandinavica**. ISSN 00016314. 135:1 (2017) 4–16. doi: 10.1111/ane.12671.
5. EYER, Florian *et al.* - Risk assessment of moderate to severe alcohol withdrawal-predictors for seizures and delirium tremens in the course of withdrawal. **Alcohol and Alcoholism**. ISSN 07350414. 46:4 (2011) 427–433. doi: 10.1093/alcalc/agr053.

6. RAHMAN, Abdul; PAUL, Manju - **Delirium Tremens (DT)** [Em linha] [Consult. 13 abr. 2018]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29489272>.
7. SCHUCKIT, Marc A. - Recognition and management of withdrawal delirium (delirium tremens). **The New England journal of medicine**. ISSN 1533-4406. 371:22 (2014) 2109–13. doi: 10.1056/NEJMra1407298.
8. MUNSTER, Barbara C. VAN *et al.* - Genetic polymorphisms related to delirium tremens: A systematic review. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**. ISSN 01456008. 2007). doi: 10.1111/j.1530-0277.2006.00294.x.
9. KOOB, G.; MOAL, M. LE - Drug Addiction, Dysregulation of Reward, and Allostasis. **Neuropsychopharmacology**. ISSN 0893133X. 24:2 (2001) 97–129. doi: 10.1016/S0893-133X(00)00195-0.
10. HUGHES, John R. - Alcohol withdrawal seizures. **Epilepsy & Behavior**. ISSN 15255050. 15:2 (2009) 92–97. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.02.037.
11. BHARADWAJ, Balaji; KATTIMANI, Shivanand - Clinical management of alcohol withdrawal: A systematic review. **Industrial Psychiatry Journal**. ISSN 0972-6748. 22:2 (2013) 100. doi: 10.4103/0972-6748.132914.
12. MA, Hui; ZHU, Gang - The dopamine system and alcohol dependence. **Shanghai archives of psychiatry**. ISSN 1002-0829. 26:2 (2014) 61–8. doi: 10.3969/j.issn.1002-0829.2014.02.002.
13. VOLKOW, Nora D. *et al.* - Effects of alcohol detoxification on dopamine D2 receptors in alcoholics: a preliminary study. **Psychiatry research**. ISSN 0165-1781. 116:3 (2002) 163–72.

14. WITTE, Ph DE *et al.* - Alcohol and withdrawal: from animal research to clinical issues. **Neuroscience and biobehavioral reviews**. ISSN 0149-7634. 27:3 (2003) 189–97.
15. DICK, Danielle M.; FOROUD, Tatiana - Candidate Genes for Alcohol Dependence: A Review of Genetic Evidence From Human Studies. **Alcoholism: Clinical & Experimental Research**. ISSN 0145-6008. 27:5 (2003) 868–879. doi: 10.1097/01.ALC.0000065436.24221.63.
16. MÜLLER-MYHSOK, Bertram - The usefulness of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for genetic epidemiological investigation of complex psychiatric diseases. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. ISSN 02785846. 29:6 (2005) 1017–1020. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.03.018.
17. NEDIC, Gordana *et al.* - Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and alcohol-related phenotypes. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. ISSN 02785846. 40:1 (2013) 193–198. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.09.005.
18. GRZYWACZ, Anna *et al.* - Influence of DRD2 and ANKK1 polymorphisms on the manifestation of withdrawal syndrome symptoms in alcohol addiction. **Pharmacological Reports**. ISSN 17341140. 64:5 (2012) 1126–1134. doi: 10.1016/S1734-1140(12)70909-X.
19. PREUSS, Ulrich W. *et al.* - Association of ADH4 genetic variants with alcohol dependence risk and related phenotypes: Results from a larger multicenter association study. **Addiction Biology**. ISSN 13556215. 16:2 (2011) 323–333. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00236.x.

20. SOYKA, M. *et al.* - GABA-A2 receptor subunit gene (GABRA2) polymorphisms and risk for alcohol dependence. **Journal of Psychiatric Research**. ISSN 00223956. 42:3 (2008) 184–191. doi: 10.1016/j.jpsychires.2006.11.006.
21. MALHOTRA, Savita *et al.* - An exploratory study of candidate gene(s) for Delirium Tremens: Adding the new cholinergic dimension to the conundrum. **Asian Journal of Psychiatry**. ISSN 18762026 (2018). 17 30408–2.
22. IVASHCHENKO, Dmitriy V. *et al.* - The association of polymorphisms in DAT (40 bp VNTR, C>T 3'UTR) and DBH (-1021 C/T) genes with the severe complications of alcohol withdrawal state. **Psychiatric Genetics**. ISSN 14735873. 25:6 (2015) 268–269. doi: 10.1097/YPG.000000000000101.
23. KARPYAK, Victor M. *et al.* - Interaction of SLC6A4 and DRD2 polymorphisms is associated with a history of delirium tremens. **Addiction Biology**. ISSN 13556215. 15:1 (2010) 23–34. doi: 10.1111/j.1369-1600.2009.00183.x.
24. LÖW, K. *et al.* - Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. **Science (New York, N.Y.)**. ISSN 0036-8075. 290:5489 (2000) 131–4.
25. BUCK, K. J. - New insight into the mechanisms of ethanol effects on GABAA receptor function and expression, and their relevance to behavior. **Alcoholism, clinical and experimental research**. ISSN 0145-6008. 20:8 Suppl (1996) 198A–202A.
26. GROBIN, A. C. *et al.* - The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. **Psychopharmacology**. ISSN 0033-3158. 139:1–2 (1998) 2–19.
27. HEINZ, Andreas *et al.* - Pharmacogenetic insights to monoaminergic dysfunction in alcohol dependence. **Psychopharmacology**. ISSN 0033-3158. 174:4 (2004) 561–70. doi: 10.1007/s00213-004-1903-x.

28. TOBLER, I. *et al.* - Diazepam-induced changes in sleep: role of the alpha 1 GABA(A) receptor subtype. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 0027-8424. 98:11 (2001) 6464–9. doi: 10.1073/pnas.111055398.
29. OLSEN, Richard W.; LIANG, Jing - Role of GABAA receptors in alcohol use disorders suggested by chronic intermittent ethanol (CIE) rodent model. **Molecular Brain**. ISSN 1756-6606. 10:1 (2017) 45. doi: 10.1186/s13041-017-0325-8.
30. KOULENTAKI, Mairi; KOUROUMALIS, Elias - GABAA receptor polymorphisms in alcohol use disorder in the GWAS era. **Psychopharmacology**. ISSN 0033-3158. 2018). doi: 10.1007/s00213-018-4918-4.
31. LAPPALAINEN, Jaakko *et al.* - Association between alcoholism and gamma-amino butyric acid alpha2 receptor subtype in a Russian population. **Alcoholism, clinical and experimental research**. ISSN 0145-6008. 29:4 (2005) 493–8.
32. FREIRE, M. T. M. V.; HUTZ, M. H.; BAU, C. H. D. - The DBH –1021 C/T polymorphism is not associated with alcoholism but possibly with patients' exposure to life events. **Journal of Neural Transmission**. ISSN 0300-9564. 112:9 (2005) 1269–1274. doi: 10.1007/s00702-005-0339-8.
33. HSHIEH, Tammy T. *et al.* - Cholinergic deficiency hypothesis in delirium: a synthesis of current evidence. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**. ISSN 1079-5006. 63:7 (2008) 764–72.
34. GOSSO, Florencia M. *et al.* - Exploring the functional role of the CHRM2 gene in human cognition: results from a dense genotyping and brain expression study. **BMC Medical Genetics**. ISSN 1471-2350. 8:1 (2007) 66. doi: 10.1186/1471-2350-8-66.



35. JUNG, M. H. *et al.* - Association of CHRM2 polymorphisms with severity of alcohol dependence. **Genes, Brain and Behavior**. ISSN 16011848. 10:2 (2011) 253–256. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00663.x.
36. MÄKI-TANILA, Asko; HILL, William G. - Influence of gene interaction on complex trait variation with multilocus models. **Genetics**. ISSN 1943-2631. 198:1 (2014) 355–67. doi: 10.1534/genetics.114.165282.
37. ESPOSITO, E.; DIMATTEO, V.; DIGIOVANNI, G. - Serotonin–dopamine interaction: an overview. Em **Serotonin&#x2013;Dopamine Interaction: Experimental Evidence and Therapeutic Relevance** [Em linha]. [S.l.] : Elsevier, 2008 [Consult. 16 abr. 2018]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18772025>.v. 172. p. 3–6.
38. BUTTON, Katherine S. *et al.* - Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 1471-003X. 14:5 (2013) 365–376. doi: 10.1038/nrn3475.
39. STERN, Theodore A. *et al.* - Current Approaches to the Recognition and Treatment of Alcohol Withdrawal and Delirium Tremens: «Old Wine in New Bottles» or «New Wine in Old Bottles». **The Primary Care Companion to The Journal of Clinical Psychiatry**. ISSN 1555-211X. 2010). doi: 10.4088/PCC.10r00991ecr.
40. CARUANA, Edward Joseph *et al.* - Longitudinal studies. **Journal of thoracic disease**. ISSN 2072-1439. 7:11 (2015) E537-40. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.10.63.